

Ueber die Inhaltsstoffe der Schachtelhalmgewächse (Equisetum-Arten)

Chemische und pharmakologische Kenntnisse

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VON

RUDOLF GRIOT

AUS ZÜRICH UND CELERINA (GRB.)

BEGUTACHTET VON HERRN PROF. DR. P. KARRER

BRUNNER & BODMER ZÜRICH

1953

Ueber die Inhaltsstoffe der Schachtelhalmgewächse (Equisetum-Arten)

Chemische und pharmakologische Kenntnisse

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

PHILOSOPHISCHEN DOKTORWÜRDE

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT II

DER

UNIVERSITÄT ZÜRICH

VON

RUDOLF GRIOT

AUS ZÜRICH UND CELERINA (GRB.)

BEGUTACHTET VON HERRN PROF. DR. P. KARRER

BRUNNER & BODMER ZÜRICH

1953

Meinem sehr verehrten Lehrer

Herrn Prof. Dr. P. Karrer

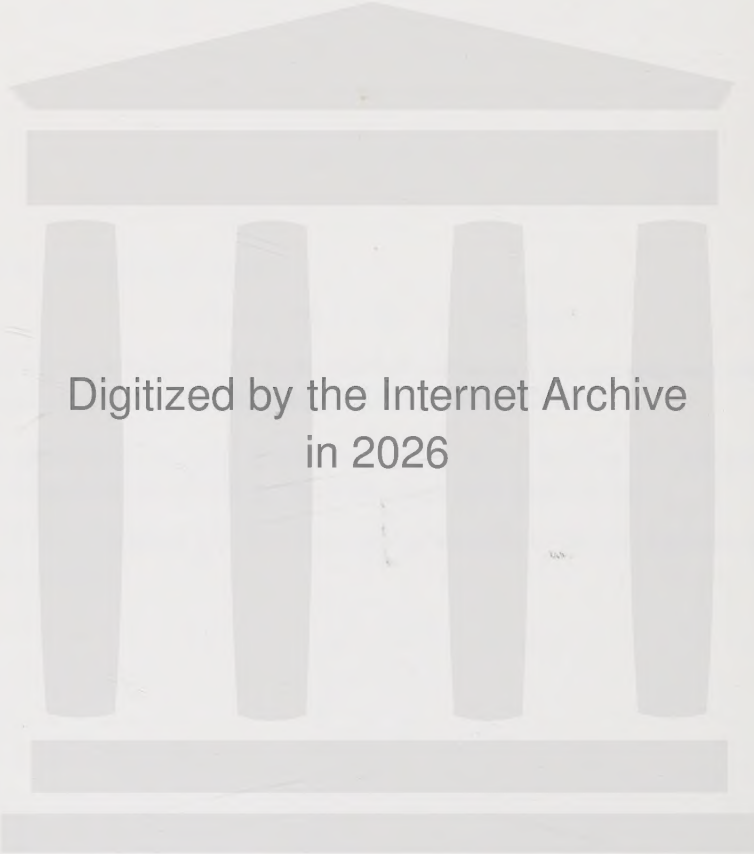
danke ich recht herzlich für seine überaus wertvollen Anregungen und für seine wohlwollende Unterstützung meiner Arbeit.

Mein verbindlichster Dank gebührt auch Herrn Dr. C.H. Eugster, der meine Untersuchungen durch tatkräftige Mithilfe wesentlich gefördert hat.

Frl. Dr. G. Bussmann und Frl. Kunz danke ich bestens für die Ausführung der Mikroanalysen.



MEINEN LIEBEN ELTERN GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507223_0036

ÜBERSICHT ÜBER DIE BISHER GEFUNDENEN INHALTSSTOFFE VON EQUISETUM-ARTEN

EINLEITUNG

Die schon im Altertum bekannte Familie der Equisetaceen führt im Volksmund eine grosse Anzahl von Namen (2). Die einen leiten sich von ihrem Aussehen, das an den Schweif eines Pferdes oder eines anderen Tieres erinnert ab. (Equisetum, von equus und seta, entsprechend dem griechischen Hippuris, ferner Ratten-, Katzen- und Fuchsschwanz usw.). Andere Namen rühren vom schafartigen Bau der Stengel her, so z.B. Schachtelhalm, Schaftheu u.a.m. Eine weitere Vielfalt der Bezeichnungen liegt der rauhen Beschaffenheit und der früheren Verwendung des Schachtelhalms zugrunde: Asprella von asper, Zinnkraut, Fegkraut, Polierheu usw. Der toxischen Wirkung auf Weidevieh verdankt das Equisetum palustre seinen Namen Kuhtod. In Norddeutschland nennt man es auch Duwock.

Die Equisetaceen, eine Familie der Kryptogamen, kommen fast ausschliesslich in der gemässigten Zone der nördlichen Hemisphäre vor. Ausnahmen machen einige Arten, die im höheren Himalaya und in Südafrika gefunden werden. In Europa sind elf Spezies von Equisetum vertreten (1): Eq. arvense, - heleocharis (limosum), -hiemale, - maximum, - palustre, - pratense, - ramosissimum, - scirpoides, -silvaticum, - trachyodon, - variegatum.

Aus einem Rhizom treiben die Schachtelhalme Sprosse von einjähriger Dauer. Die Sporangienstände befinden sich in Ährenform an der Spitze der grünen oder chlorophyllfreien Sprosse. Nach Entleerung der Sporen wandeln sich diese in die unfruchtbare Form um oder sterben ab.

Schon früh erkannte man eine gewisse adstringierende und eine hämostatische Eigenschaft der Equisetaceen, (2). In der gesamten älteren Literatur wird dem Schachtelhalm auch eine diuretische Wirkung zugeschrieben, die heute allerdings von einigen Forschern angezweifelt wird. Während die Droge "Herba equiseti" im 18. und 19. Jahrhundert kaum mehr verordnet wurde, so finden wir sie in den meisten neueren Pharmakopöen wieder.

Die officinelle Droge der Ph. Helv. Ed. V sind die getrockneten grünen (unfruchtbaren) Sprosse von *Eq. arvense* L. In Mexico z.B. ist *Eq. giganteum* officinell.

Sind es bei den einen Arten der Schachtelhalme ihre heilenden und gesundheitsfördernden Eigenschaften, so sind es beim *Eq. palustre* u.a. deren toxische Inhaltsstoffe, die dieser Pflanzenfamilie zu einem gewissen Interesse verhalfen. Schon bei Plinius (3) finden wir die Bemerkung, dass Schachtelhalm für das Vieh unzuträglich sei. Seither wurden immer wieder die giftigen Wirkungen des Sumpfschachtelhalmes erwähnt und es fehlte auch nicht an Versuchen, diesen durch geeignete Prozesse unschädlich zu machen. Seit den Kriegsjahren wurden grosse Sumpfgebiete durch Drainage urbanisiert, ohne dass dabei der Duwock ausgerottet werden konnte. Dieser ist es nun, der das an sich fruchtbare Land als Viehweide unbrauchbar macht. Diese Zusammenhänge gaben denn auch den Anstoss zur Untersuchung des *Eq. palustre* durch die Universität Zürich. Die vorliegende Dissertation stellt einen Teil dieser Arbeiten dar.

INHALTSSTOFFE DER BIS HEUTE UNTERSUCHTEN EQUISETUM-ARTEN

Alle Schachtelhalmgewächse enthalten einen hohen Prozentsatz mineralischer Stoffe. Nach einer von Lohmann (4) aufgestellten Tabelle findet man Aschengehalte von 11-40 %, deren Hauptanteil immer ca. 50-90 % SiO_2 ist. Daneben finden sich wechselnde Mengen von Fe, Al, Mn, Ca, Mg, K, Na, P, S, Cl. Es scheint, dass die Equisetaceen besonders befähigt sind, sich dem Boden, auf dem sie gedeihen, anzupassen. So wurde von Warren und Delavault (5) in Schachtelhalmen, die im Gebiete einer Goldmine wuchsen bis 0,07 mg% Au gefunden, während Robinson u.a. (6) in *Eq. arvense*, das in einer Zinkschlamm-Grube wucherte, bis zu 5,4 % Zn ermittelte. Andere Forscher melden extrem hohe SiO_2 -Gehalte von Dünen-Schachtelhalmen.

EQUISETUM ARVENSE

Diese Art ist wohl die am meisten angewandte Equisetum-Droge. Sie findet sich in den Pharmakopöen als *Herba equiseti* L. und ist dementsprechend gut untersucht.

Nach Casparis und Haas (7) enthält die trockene Droge des Handels u.a. 7,4 % SiO_2 . Dieses geht beim Kochen in echte Lösung und ist nach Feststellungen von Gaudard (8) in dieser Form viel aktiver auf den Organismus als in kolloidaler. Versuche von Masimo (9) ergaben, dass Fluidextrakte, die mit 70 % igem Alko-

hol hergestellt wurden nur Spuren, wässrige Auszüge dagegen bis 0,4 % SiO_2 enthielten. Er zieht daraus den Schluss, dass das Si nicht in organischer Bindung vorliege.

Seitdem diese Droge bekannt ist, findet sie in der Volksmedizin Anwendung als Diuretikum. Obwohl neuere Versuche, die zwar stets nur am gesunden Organismus vorgenommen wurden, diese Eigenschaft in Abrede stellen, bleibt die Frage offen, ob die immer behauptete diuretische Wirkung vielleicht auf den kranken Körper beschränkt bleibt. Hätte die Droge wirklich keine harntreibenden Wirkungen, so ist nicht anzunehmen, dass sie sich durch die Jahrhunderte gerade als ein Diuretikum hätte halten können. Damit seien jedoch die nachfolgend erwähnten, streng wissenschaftlichen Ergebnisse als solche nicht angezweifelt. Man darf aber nicht übersehen, dass sie im Tierversuch (mit einer Ausnahme) erzielt wurden, der vielleicht eben hier nicht ohne Vorbehalt auf den Menschen übertragen werden darf.

Nach seinen Versuchen mit Ratten billigt Breitwieser (10) dem Equisetum keinerlei diuretische Wirkung zu. Zu demselben Resultat kommt auch Haas (11), der im Selbstversuch am gesunden Körper keine Beeinflussung der Diurese sehen konnte. Vollmer (12) dagegen zeigte an Kaninchen und Mäusen die diuretische Wirksamkeit des Ackerschachtelhalmes. Ebenso vertritt Kraitmair (13) die Ansicht über die diuretische Wirksamkeit der frischen Pflanze. Als deren Ursache nimmt er organische Stoffe, ev. Glucoside an und verneint gleichzeitig, auf Grund ausgedehnter Versuche, die diuretische Aktivität von Siliciumlösungen. Jaretzki u. a. (14) lehnt sowohl die diuretischen Eigenschaften von *Herba equiseti*, als auch diejenige von Siliciumlösungen entschieden ab. Hingegen unterstreicht er die entzündungshemmende Wirkung von SiO_2 (15). Erfolge der Equisetum-Behandlung bei chronischer Cystitis und bei Blasen tuberkulose werden dem hohen SiO_2 -Gehalt zugeschrieben. Auch in der Bekämpfung der Lungentuberkulose spielte der Schachtelhalm eine Rolle. Nach Kobert (16) fördert vermehrte Kie-selsäurezufuhr im tuberkulösen Gewebe die Schwielenbildung und regt die Leukozytengenes an. Ob diese Therapie heute noch angewandt wird, entzieht sich meiner Kenntnis.

Manskaya (17) stellte in *Eq. arvense* ein Lignin fest, Haas (18) diejenige eines Saponins. Dieses, Equisetonin genannt, ist in Wasser und Alkohol löslich; sein hämolytischer Index ist 660, die Schaumzahl 500. Durch saure Hydrolyse lässt sich Equisetonin in das wasserunlösliche Equisetogenin $\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{O}_6$, Arabinose und Fructose spalten. Im Gegensatz zu Haas fand Roberg (19) nur eine sehr schwache hämolytische Wirksamkeit des Saponins auf Hammelblut, gar keine auf Rinderblut. Das von Haas isolierte Saponin wirkt nicht diuretisch.

An weiteren Inhaltsstoffen isolierten Casparis und Haas (7) Oxal- und Aconitsäure, ferner Glyceride der Oel-, Linol-, Linolen- und Stearinsäure. Aus dem Unverseifbaren gewannen sie ein Phytosterin mit Smp. 73-74°. Nakamura und Hukuti (20) fanden drei Glucoside, nämlich Quercetin-3-glucosid, Luteolin-5-glucosid und Kämpferol-7-diglucosid, welches letztere sie Equisetrin benannten. Manske (21) isolierte 3-Methoxypyridin, während P. Karrer, C.H. Eugster und D.K. Patel (22) neben Nicotin noch Palustrin und Dimethylsulfon fassen konnten.

Der Alkaloidgehalt ist wohl verantwortlich für die von Fiske (23) berichtete Toxizität für Pferde. Es fällt allerdings auf, dass sonst nirgends eine Schädlichkeit dieser Equisetumart für Tiere erwähnt wird. Linné (24) bezeichnet das Zinnkraut sogar als sehr gutes Futter. In der Tat ermittelte Obukhov (25) einen relativ hohen Nährwert von rund 100 Kal./ 100 gr. Nach seinen Angaben beträgt der Gehalt an Vitamin C 75-100 mg%.

EQUISETUM FLUVIATILE

Im frischen Pressaft fand Gibelli (26) eine hämolytisch wirkende Substanz. Sie erhöht weder den Blutdruck noch verengt sie die Gefäße. Wahrscheinlich handelt es sich bei diesen Stoffen um Flavone (27). Braconnot fand im Flusschachtelhalm erstmals die, von ihm zunächst Equisetsäure genannte, Aconitsäure (28). Nach ihm ist sie an Magnesium gebunden, während sie nach neueren Auffassungen als an Alkaloide gebunden erscheint.

EQUISETUM HIEMALE

Neben hämostatisch wirksamen Verbindungen (26) und Aconitsäure (28) fanden P. Karrer, C.H. Eugster und D.K. Patel (22) Dimethylsulfon, Ferula- und sehr wenig Kaffeesäure, ferner eine nicht weiter untersuchte Substanz der Formel $C_{10}H_{10}O_4$, Smp. 170°. Nach Schoene (29) kommt der Ferulasäure eine definierte chologoge Wirkung zu. Der leicht gallentreibenden Eigenschaft dieses Species steht der entsprechende negative Befund Kraitmair's (13) für *Eq. arvense* gegenüber. P. Karrer und Mitarbeiter isolierten weiter eine geringe Menge Nicotin, fanden dagegen kein Palustrin. Schliesslich ermittelten sie eine kristallisierte Säure $(C_4H_5O_5)_x$ vom Smp. 266°, deren Konstitution noch nicht feststeht. Breitwieser (10) verneint die diuretische Wirksamkeit der Droge, gleichgültig in welcher Form sie dargereicht wird.

EQUISETUM MAXIMUM

Nach Lohmann (4) zeichnet sich diese Art durch hohen Aschengehalt, insbesondere durch hohen Eisengehalt aus. Der letztere ist wohl die Ursache der blutkörperchenbildenden Eigenschaften der Droge, von der Gibelli (30) zu berichten weiss. Er erkannte auch hier ein hämostatisch wirksames Prinzip (26). P. Karrer und Mitarbeiter (22) vermuten in den fruchtbaren, chlorophyllfreien Sporangienträgern die Anwesenheit von Dimethylsulfon. Aus den Sporen isolierte Sosa (31) ein Glucosid $C_{23}H_{22}O_{14}$, Equisporosid genannt, das sich in ein Aglucon Equisporol von der Formel $C_{17}H_{12}O_9$ und d-Glucose zerlegen liess. Weiter erhielt er eine Dicarbonsäure $C_{35}H_{69}(OH)(COOH)_2$.

EQUISETUM LIMOSUM (Varietät von *Eq. heleocharis*).

Auch dieser Pflanze spricht Breitwieser (10) jede diuretische Eigenschaft ab. Braconnot isolierte daraus die Aconitsäure, (28). Im Verlauf unserer Arbeiten konnte eine geringe Menge Dimethylsulfon gefasst werden. Durch papierchromatographische Untersuchung wurden Nicotin, Palustrin, Palustridin und unbekannte Basen festgestellt.

EQUISETUM PALUSTRE

Schon zu allen Zeiten hat sich der Bauer über den Sumpfschachtelhalm geärgert, sei es weil dieser seiner Sense vorzeitig den Schliff nahm, oder aber weil sein Vieh unter dem Genuss des giftigen Duwocks Schaden litt.

Um abzuklären, welche Equisetumarten für das Vieh toxisch sind, unternahm Lohmann (32) ausgedehnte Fütterungsversuche mit dem Ergebnis, dass *Eq. palustre* und *Eq. silvaticum* eine Giftwirkung aufweisen. Die Vergiftungssymptome sind: Durchfall, Abmagerung, quantitativer und qualitativer Rückgang der Milch, Lähmungserscheinungen und Tod. Molfino (33) schreibt den Rückgang des Milch-ertrages dem Siliciumgehalt zu, während früher Lohmann durch seine Fütterungsversuche feststellte, dass auch kiesel-säurereichere Species als der Sumpfschachtelhalm und *Eq. silvaticum* zu keiner Beeinträchtigung des Viehs führten.

Die physiologische Prüfung des Hauptalkaloides aus *Eq. palustre*, Palustrin (auch Equisetin genannt) ergab nach Starke (34) folgendes Bild beim Versuch an der weissen Maus: Erregung, Lähmungserscheinungen und Tod durch Atemlähmung. Bei Injektion nicht letaler Dosen trat rasche Erholung der Tiere ein. Schon vorher stellte Fischer in dem von P. Karrer und Mitarbeitern erstmals rein isolierten Palustrin (35) dieselben physiologischen Wirkungen fest. Er bestimmte die letale

Dosis für die weisse Maus von 20 gr Gewicht zu 1 mg. Durch Palustrin wird der Blutdruck beim Kaninchen leicht erhöht. Diese Befunde decken sich recht gut mit den Versuchen Lohmanns an Grossvieh. Die von Molfino geäusserte Ansicht, dass die Kieselsäure das schädliche Prinzip von Equisetum sei, wird damit hinfällig.

Der Einfluss des Sumpfschachtelhalmes auf die Zusammensetzung der Milch wurde von Meetz studiert, (36). Er fand eine Reduktion der Acidität und der Dichte, starke Zunahme der Chlorionen, schwache Erhöhung des Lactoseanteils und des Aschengehaltes. Keseling (37) verabreichte Silofutter mit 13 % Eq. palustre und stellte einen Rückgang des Milchertrages fest. Infolge verminderten Fettgehaltes war die Milch auch qualitativ schlechter. 7-13% Duwock im Frischgras werden auch von Gerlach (38) als toxisch angesprochen.

Um den Alkaloidgehalt in Eq. palustre zu verringern, erhitzte er das Futter auf 100, bzw. 150° und erreichte nur bei der höheren Temperatur eine völlige Zerstörung des Giftes. Dabei wurde allerdings der Nährwert durch einsetzende Karbonisation stark herabgesetzt. Milchsäurefermentation zerstörte das Palustrin wenigstens teilweise. In einer später erschienenen Arbeit berichtet derselbe Autor (39) über die Unschädlichmachung des Duwockgiftes mittels chemischer Agenzien. Alle diese Massnahmen halte ich für unzweckmässig, denn sie sind praktisch kaum durchführbar. Aussicht auf Erfolg besteht nur, wenn das Uebel wörtlich an der Wurzel angefasst wird, d.h. wenn es gelingt, den Duwock mit selektiv wirkenden Unkrautvertilgungsmitteln aus dem betreffenden Weideland auszurotten. Der Finne Hilli (40) hat in umfangreichen Versuchen mit verschiedenen Pflanzenhormonen, welche auf das Wachstum der Gräser keinen Einfluss haben, gezeigt, dass damit der Ackerschachtelhalm ausgetilgt werden kann. Es ist ohne weiteres anzunehmen, dass die ganze Familie der Equisetaceen auf Hormone ähnlich reagiert und somit auch der Duwock zerstört werden könnte.

Nach Wöhlbier u. a. lieferte Pflanzenmaterial aus dem Wesergebiet folgende Futtermittelanalyse: Wasser 14 %, Asche 23 %, Rohprotein 12 %, Rohfaser 19 %, Rohfett 1,7 %, N-freie Extraktstoffe 31 %, (43).

Ueber die Alkaloidnatur des Duwock-Giftstoffes veröffentlichte Lohmann 1904 eine Arbeit, (32). Er nannte die von ihm gefundene Base Equisetin. 1935 folgte eine Publikation von W. Wöhlbier und Mitarbeitern (41) über die Gewinnung eines Alkaloides aus Duwock.

Ein Jahr später schlugen Glet und Gutschmidt (42) eine Formel $C_{12}H_{24}O_2N_2$ für das von ihnen als Pikrat und Goldsalz isolierte und so benannte Palustrin vor. Möglicherweise handelte es sich tatsächlich um Salze des Palustrins, das P. Karrer und Mitarbeiter später rein darstellten. Diese Vermutung wird erhärtet durch den von Glet gefundenen Schmelzpunkt des Hydrochlorides seiner Base, der mit 181°

dem später gefundenen (35) entspricht. Hingegen scheint ihre Ausbeute von 0,95 % des Ausgangsmaterials als reichlich hoch gegenüber derjenigen, die andere Forscher erhielten (35, 43). Obwohl der Alkaloidgehalt der Pflanze schwankt, so erzielte man doch noch nie derartige Ausbeuten.

1948 beschrieben P. Karrer und C.H. Eugster (35) das Palustrin wie folgt: Base der Formel $C_{17}H_{29}O_2N_3$, Smp. 121° , $[\alpha]_D^{18^{\circ}} = +15,8^{\circ}$, 2 aktive H-Atome, kein $-OCH_3$, nimmt bei der katalytischen Hydrierung 1 Mol Wasserstoff auf, d.h. hat vermutlich eine Doppelbindung im Molekül, zeigt im UV bis 2200 Å keine selektive Absorption, ein N-Atom ist stark, das zweite schwach und das dritte nicht basisch. Die vorgeschlagene Bruttoformel wurde durch die Analysen des Pikrates des Dihydrochlorids und des Chloroplatinates gestützt.

Nach neuesten, noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von P. Karrer und C.H. Eugster enthält das Palustrin 2 H-Atome mehr. Alle Berechnungen im experimentellen Teil dieser Dissertation beruhen daher auf der wahrscheinlicheren Formel $C_{17}H_{31}O_2N_3$.

Im Jahre 1949 berichteten P. Karrer, C.H. Eugster und D.K. Patel (22) über die Isolierung von Thymin und, zum ersten Male in einer Pflanze gefunden, von Dimethylsulfon. Ausserdem fanden sie Nicotin und eine noch nicht identifizierte Base, deren Hydrochlorid bei 245° schmilzt, sowie eine unbekannte Säure, die inzwischen als Linolensäure erkannt wurde. (s. XXII, expt. Teil).

Zwei Jahre nach der ersten Reindarstellung des Palustrins durch P. Karrer und Mitarbeiter veröffentlichten W. Wöhlbier und Beckmann (43) eine Mitteilung über die Inhaltsstoffe von *Equisetum palustre*. Sie fanden für ihr, Equisetin genanntes Alkaloid, dieselbe Formel ($C_{17}H_{29}O_2N_3$) und charakterisierten die Base mit den übereinstimmenden Daten. Die alkalische Oxydation mit Permanganat lieferte ihnen neben Oxalsäure 20 % des Total-N als NH_3 .

Aus der rohen Mutterlauge des Equisetins isolierten sie ein zweites Alkaloid Equisetonin, $C_{18}H_{31}O_2N_3$, Smp. $130-135^{\circ}$. Die Autoren übersahen offenbar eine bereits 1931 erschienene Arbeit von Casparis und Haas (17, 18), in welcher dieser Name bereits für ein Saponin aus *Eq. arvense* verwendet worden ist. Schliesslich ermittelten sie im Duwock noch Palmitin- und Aconitsäure.

Unsere eigenen Arbeiten brachten als neuen Inhaltsstoff die Linolensäure zutage. Wir stellten einige Salze und Derivate des Palustrins, Dihydropalustrins und des Desoxypalustrins her, anhand derer versucht wurde, die Funktionen der N- und O-Atome des Moleküls zu erklären. Diese Fragen werden im folgenden Teile besprochen.

Zusammenfassend hat man bisher im Sumpfschachtelhalm gefunden: Palustrin als Hauptalkaloid, Nicotin, Equisetonin, Thymin, Dimethylsulfon, Aconit-, Palmitin- und Linolensäure.

EQUISETUM RAMOSISSIMUM

Nach Untersuchungen von Steyn (44) enthält dieses Species ebenfalls Alkaloide, deren Charakterisierung jedoch noch aussteht.

EQUISETUM SILVATICUM

Im Verlauf der eigenen Untersuchungen (s. XX, expt. Teil) isolierten wir aus dem Waldschachtelhalm neben nicht identifizierten Basen Nicotin. Wir vermuten auch die Anwesenheit von Dimethylsulfon.

THEORETISCHE BETRACHTUNGEN ZU DEN EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

ISOLIERUNG UND EIGENSCHAFTEN VON PALUSTRIN

Palustrin lässt sich im Molekularvacuum ohne weiteres destillieren, doch gehen dabei die Nebenbasen verloren. Um einem solchen Verlust vorzubeugen, wurden die Rohbasen aus Eq. palustre erstmals mit Hilfe der Säulenchromatographie getrennt. Aus den Fraktionen konnte das Palustrin in guter Ausbeute direkt kristallisiert werden. Die Zusammensetzung der Rohbasen, die Reinheit obiger Fraktionen oder auch die Einheitlichkeit von Derivaten untersuchte man mittels Papierchromatogrammen.

An neuen Salzen wurde das Dipikrolonat (II), das Perchlorat (III), an Derivaten das 2,4-Dinitrophenylpalustrin (IV), Methylpalustrin-dipikrat (V), Palustrinjodmethylat-hydrojodid (Va), das Desoxypalustrin (X) und das Dihydropalustrin (XIII) dargestellt. Ein Infrarotspektrum, ausgeführt im Institut von Prof. Güntert (ETH) ergänzte die eigenen Arbeiten.

BAU VON PALUSTRIN UND FUNKTION DER N- UND O-ATOME

Die Summenformel deutet auf das Vorhandensein dreier kondensierter Ringe hin. Im Molekül ist eine Doppelbindung vom Typus >C=C^{H} (I.R.-Spektr., Ia) vorhanden. Dies geht auch aus der Aufnahme von ca. 1 Mol H_2 bei der katalytischen Hydrierung hervor.

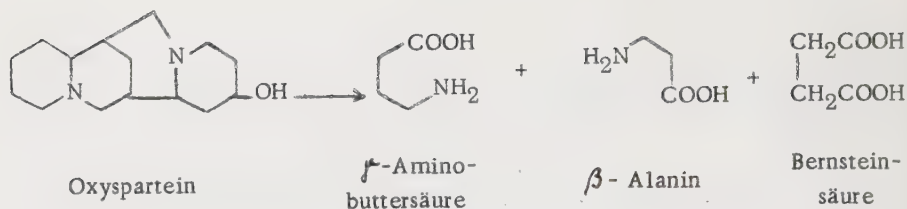
Der durchgreifende Chromsäureabbau lieferte neben Bernsteinsäure und β -

Alanin eine beträchtliche Menge γ -Aminobuttersäure,

die nur durch Aufspaltung eines einfach C-substituierten Piperidinringes entstanden sein kann, (VIII). Desoxypalustrin liess sich oxydativ zu denselben Aminosäuren abbauen, (IX). Als Ausnahme entstand hier zusätzlich sehr wenig Glycin. Das Auftreten



von β -Alanin lässt auf die Anwesenheit eines zweiten, ähnlich gebauten Ringes schliessen. Interessanterweise liefert der Palustrinabbau dieselben Spaltprodukte wie der, von P. Karrer und Widmer (62) beschriebene analoge Versuch mit Oxysparteïn.



Vorgängig der Oxydation von Palustrin wurde als Modellversuch Spartein nach der Methode von P. Karrer und Widmer (45) abgebaut, wobei neben β -Alanin und γ -Aminobuttersäure viel Glycin entstand.

Alle diese Befunde, zusammen mit biogenetischen Betrachtungen lässt eine Verwandtschaft des Palustrins mit den Lupinenalkaloiden als durchaus möglich erscheinen.

Funktion der O-Atome:

Durch die saure Verseifung (VII) erfuhr die Zahl der C-Atome im Palustrin keine Veränderung. Ein O-Atom muss daher in einer Lactamgruppierung gebunden sein. Eines der beiden aktiven H-Atome (nach Zerewitinoff) gehört zu dieser Gruppe, sie ist demnach sekundär. Durch die saure Verseifung ist eine Amino-carbonsäure entstanden, was den ausserordentlich geringen Rf-Wert von nur 0,02 (Palustrin als Vergleich 0,12) erklärt: In dem sauren Lösungsmittel (s. Anhang, Papierchromatogramme) ist das Salz dieser Aminosäure entstanden, das in Wasser sehr leicht löslich ist und daher langsam wandert.

Das zweite O-Atom gehört nach dem I.R.-Spektrum am ehesten zu einer OH-Gruppe. Diese liefert das zweite aktive H-Atom. Die Umsetzung von Dihydropalustrin mit p-Nitrobenzoylchlorid, das mit primären und auch mit sekundären OH-Gruppen leicht reagiert, verlief in einer derart schlechten Ausbeute, dass auf eine tertiäre Bindung des Hydroxyls geschlossen wurde. Mit Essigsäureanhydrid (XVII) bildete sich aus Dihydropalustrin ein Produkt, das sich weder durch saure, noch durch alkalische Verseifung in das Ausgangsmaterial zurückverwandeln liess. Anstelle einer einfachen Acetylierung muss eine tiefer gehende Veränderung des Moleküls stattgefunden haben. Ein Versuch, die Hydroxylgruppe von Dihydropalustrin mittels Thionylchlorid durch Chlor zu ersetzen, blieb ohne Erfolg.

Funktion der N-Atome :

Die Umsetzung von Palustrin mit Dinitrofluorbenzol (IV) zum Mono-2,4-dinitrophenylpalustrin, das als schön kristallisiertes Monohydrochlorid erhalten werden konnte, gibt Auskunft über die Natur von zwei N-Atomen. Das Derivat weist dem einen Stickstoffatom sekundären Charakter zu, während das andere, noch basische N-Atom tertiär gebunden ist. Wie die Analyse der Salze und auch die Versuche VII und X zeigen, bildet das dritte N-Atom den Bestandteil einer sekundären Lactamgruppe.

Gegen das Vorhandensein von -NH_2 spricht die Bestimmung nach van Slyke, die für Palustrin die Werte 0,00 und 0,09 ergab.

Palustrin liess sich mit CH_3J und Ag_2O zu einer quaternären Base methylieren (V), bzw. (Va). Durch Reaktion von Dihydropalustrin mit Jodmethyl wurde vermutlich auch das zweite Stickstoffatom quaternisiert, (XVIII). Offenbar hemmt die Doppelbindung des Palustrins die Quaternisierung des zweiten N-Atoms.

BETRACHTUNGEN ÜBER DIE BIOGENESE DES PALUSTRINS

Ueber den Alkaloidgehalt der Pflanze wurden zwei Ansichten geäussert. Nach Lohmann (46) stammt das Gift aus der Pflanze selbst, während Fröhner (47) glaubt, er werde von einem auf ihr wachsenden Pilze erzeugt. Anlässlich der Arbeiten von P. Karrer und Mitarbeiter (22) züchtete man diesen Pilz im Institut von Prof. Gäumann (ETH) und untersuchte Pflanzenmaterial und Kulturfiltrat auf Alkaloide. Da keine nachgewiesen werden konnten, dürfte die Ansicht Fröhners hinfällig sein.

Die vorliegenden Arbeiten haben das Vorhandensein eines Piperidinringes ergeben. Dieser könnte vielleicht aus Lysin und Acetondicarbonsäure durch Kondensation entstanden sein, (48). In diesem Zusammenhang sei noch auf den relativ hohen Stickstoffgehalt der Equisetaceen (s. I. Teil dieser Diss.) hingewiesen, der auf eine gute Assimilationsfähigkeit für Luftstickstoff deutet.

In etlichen Equisetum-Arten wurden Nicotin und 3-Methoxypyridin gefunden. Es wurde früher die Vermutung geäussert, dass Palustrin in die Gruppe der Lupinen-Alkaloide einzureihen sei. Anhand der nachstehenden Tabelle wird versucht, Pflanzenfamilien und zugehörige Basen zueinander in Beziehung zu bringen.

SOLANACEEN

Nicotiana spp. (49)

COMPOSITAE (50)

CRASSULACEEN (51)

ASCLEPIADACEEN (52)

LYCOPODIACEEN (53)

CHENOPODIACEEN

Anabasis aph. (54)

(enth. Anabasin)

PAPILIONACEEN (55)

Ammodendron con. (56)

(enth. Ammodendrin)

Thermopsis rhombi-

folia (57)

Nicotin

LUPINEN-
alkaloide

3-Methoxy-
pyridin

EQUISETACEEN

E. hiemale (22)

E. limosum (XXI)

E. palustre (22)

E. silvatic. (XX)

E. arvense (21, 22)

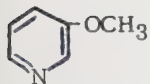
Wie ersichtlich hat man Nicotin bisher in 7 Pflanzenfamilien angetroffen, so auch in einer Chenopodiacee Anabasis aphylla. Dort ist es in Gesellschaft von Anabasin, eines Alkaloides der Nicotingruppe und gleichzeitig von Aphyllin und Aphyllidin, zwei Lupinenbasen. Dieses Vorkommen von Alkaloiden der Lupinengruppe neben Nicotin könnte auf biogenetische Beziehungen der beiden Alkaloid-Klassen hinweisen.

In der Papilionacee Thermopsis rhombifolia findet man Basen der Lupinengruppe neben 3-Methoxypyridin, welches letztere ja auch in Eq. arvense festgestellt und in anderen vermutet wurde.

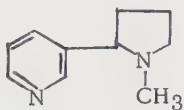
Es bleibt noch auf die Lycopodiaceen hinzuweisen, die, zu den Cryptogamen gehörend, die unmittelbaren Verwandten der Schachtelhalmgewächse sind. Sie enthalten ebenfalls Nicotin und es ist daher nicht ausgeschlossen, dass auch jene Alkaloide, die wohl isoliert aber konstitutionell noch nicht bekannt sind, Ähnlichkeit mit Palustrin und vielleicht den Lupinen-Basen zeigen.

Zur Ergänzung des vorstehenden Schemas seien hier einige Alkaloide wiedergegeben :

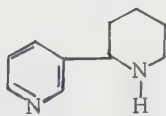
NICOTINREIHE



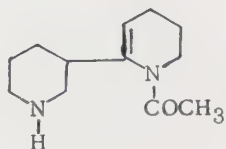
3-Methoxypy.



Nicotin

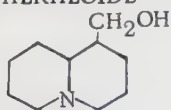


Anabasin

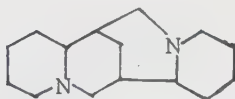


Ammodendrin
(Doppelbindg. ?)

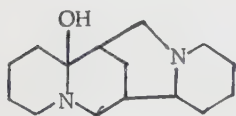
LUPINENALKALOIDE



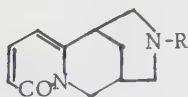
Lupinin



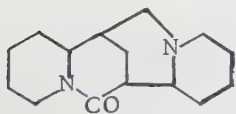
Sparteine



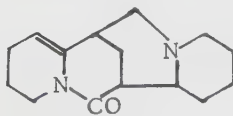
Retamin (?)



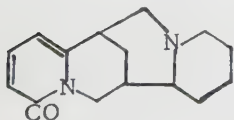
Cytisin (R=H)
Methylcyt. (R= -CH₃)



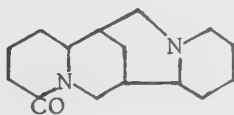
Aphyllin



Aphyllidin



Anagyrin



Lupanin

EXPERIMENTELLER TEIL

I. DARSTELLUNG VON PALUSTRIN

Aus 30 kg luftgetrocknetem Sumpfschachtelhalm stellte man die Alkohol- und Benzolextrakte her (35). Die Papierchromatogramme dieser beiden Auszüge zeigten beide grössere Mengen Palustrin, wenig Nicotin und andere, nicht identifizierte Basen an, weshalb die zwei Extrakte vereinigt aufgearbeitet wurden. Zusammen mit den Rohbasen aus weiteren 16 kg Equisetum palustre einer früheren Extraktion chromatographierte man dieses Gemisch an Aluminiumoxyd.

Als Vorversuch wurden 6 gr Rohbasen an eine Säule 26 x 265 mm, 170 gr Al_2O_3 (Aktivität I), in Chloroform chromatographiert. Es ergab sich folgendes Bild: unten gelber Ring, brauner Ring, graue Zone.

Fraktion	1	Vorlauf bis gelber Ring, alkaloidfrei, verworfen	
"	2	Gelber Ring bis erste braune Zone	1,35 gr
"	3	Graue Zone, eluiert m. 150 cc Chloroform	3,25 gr
"	4	Eluat von 150 cc Chloroform	0,50 gr
"	5	Eluat von 100 cc Chlf. + 10 cc MeOH	0,12 gr
"	6	Eluat von 100 cc Chlf. + 10 cc MeOH	0,05 gr

Ein Papierchromatogramm zeigte weitgehende Identität der Fraktionen 2-6 hinsichtlich eines überwiegenden Palustringehaltes. In der 2. Fraktion war zudem noch etwas Nicotin nachweisbar.

Der Hauptversuch mit 9 gr Rohbasen verlief ziemlich ähnlich. Die Basen hat man an eine Säule 485 x 38 mm, 380 gr Al_2O_3 (Aktivität I) in Chloroform chromatographiert. Bild von unten nach oben: Scharf begrenzte, gelbliche Zone (im U.V. intensiv), bräunliche Zone mit begrenzendem braunen Ring, grosse graue Zone (Palustrin) mit einem gelben Ring in der Mitte, bräunliche und zuoberst intensiv braun gefärbte Zone.

Fraktion	1	Vorlauf, alkaloidfrei	0,1 gr
"	2	bis brauner Ring	3,30 gr
"	3	brauner Ring	0,25 gr
"	4	graue Zone, eluiert mit 150 cc Chlf.	0,15 gr
"	5	Eluat von 450 Chlf. + 45 cc MeOH	1,00 gr
"	6	Eluat von 300 cc Chlf. + 45 cc MeOH	0,10 gr

Entsprechend den Papierchromatogrammen vereinigte man die Fraktionen :

A)	Fr. 3a	+	2b	6,55 gr	Palustrin-Hauptanteil
B)	Fr. 2,4 a	+	3b	2,10 gr	
C)	Fr. 5a	+	4,5 b	1,27 gr	
D)	Fr. 6a	+	6b	0,15 gr	

10,07 gr

Die vom Chloroform befreiten Basen A wurden unter Druck mit schrittweiser Zugabe von wenigen cc Aether in der Wärme gelöst und die Lösung während 24 Std. im Kühlschrank bei -15°C stehen gelassen. Das Palustrin kristallisierte dabei in kleinen Prismen, die Ausbeute betrug 2,0 gr. Das rohe Produkt hat man in 150 cc Aether gelöst, wobei ein geringer Anteil an Unlöslichem zurückblieb. Nach dem Abfiltrieren und Einengen der Lösung wurde diese erneut während 24 Std. bei -15° der Kristallisation überlassen. Es resultierten 1,65 gr hellgelbes Palustrin vom Smp. $119-120^{\circ}$, das für weitere Untersuchungen rein genug war.

Die vereinigten Mutterlaugen wurden mit ätherischer Salzsäure in die Hydrochloride übergeführt. Diese hat man mit Tierkohle entfärbt und aus Alkohol kristallisiert. Das so erhaltene weisse Palustrindihydrochlorid schmolz unter Zersetzung bei 180° . Ausbeute 1,7 gr.

Die Basen B-D führte man in derselben Weise in die Hydrochloride über. Deren Schmelzpunkte waren: B 178° , C 179° , D 180° . Auf Grund dieser Schmelzpunkte vereinigte man diese Salze, total 0,95 gr und kristallisierte sie, zusammen mit dem Palustrindihydrochlorid aus A nochmals aus Alkohol um. Ausbeute 2,30 gr, Smp. 181° .

Aus den Mutterlaugen wurden durch Extraktion der sodaalkalischen Lösung mit Chloroform die Basen gewonnen. Das damit hergestellte Papierchromatogramm zeigte Nicotin (Rf. 0,05), Palustrin (Rf. 0,12), Fleck mit Rf. 0,28 (ev. 3-Methoxypyridin, dessen Rf.-Wert auf einem früheren Chromatogramm 0,25 betrug), Palustridin (Rf. 0,41) und eine unbekannte Base (Rf. 0,64). Die Arbeiten zur quantitativen Trennung der 2,5 gr Basengemisch stellten wir zurück.

Zusammenfassung : Aus total 46 kg getrocknetem Pflanzenmaterial aus dem Gebiet der Linthebene wurden isoliert :

1,65 gr krist. Palustrin, Smp. 119-120°

2,30 gr krist. Palustrindihydrochlorid, Smp. 180-181°.

Ausbeute, berechnet auf Palustrin : 0,008 %.

Ia. INFRAROTSPEKTRUM VON PALUSTRIN

OH- oder NH- Gruppen sind sicher anwesend. Das Spektrum spricht eher für eine OH-Gruppe. O in einer Aethergruppe kommt weniger in Frage.

-CONH- Eine dieser Gruppen ist sicher anwesend, eher die Imid-
-CON< gruppe.

$\text{>C} = \text{C}^{\text{H}}$ Kommt für die Doppelbindung als wahrscheinlicher Typ in Frage. Nach dem I.R.-Spektrum könnte die Doppelbindung mit der Imidgruppe konjugiert sein.

II. PALUSTRIN-DIPIKROLONAT

50 mg Palustrindihydrochlorid wurden in 50 % igem Methanol gelöst und mit einem Ueberschuss an reiner Pikrolonsäure in demselben Lösungsmittel versetzt. Man dampfte das Methanol ein, wobei sich das Salz in feinen gelben Nadelchen ausschied. Dieses kristallisierte man aus Methanol-Wasser oder aus Tetrahydrofuran-Essigester um und trocknete es bei 70° / 0,03 mm während 4 Std. Smp. 154°.

$\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{O}_{12}\text{N}_{11} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$	Ber.	C	49,82	H	5,99	N	17,28 %
(891,88)	Gef.	"	50,06	"	6,19	"	17,33 %
		"	50,27	"	5,82	"	17,24 %

III. PALUSTRIN-DIPERCHLORAT

Palustrin wurde in wenig Wasser gelöst, mit verdünnter Perchlorsäure bis pH 1 angesäuert, die Lösung eingedampft und der Rückstand aus Alkohol-Aether umkristallisiert. Die leicht gelblichen Nadeln schmolzen bei 170° unter Zersetzung.

IV. 2,4-DINITROPHENYLPALUSTRIN-HYDROCHLORID

50 mg Palustrin wurden mit 0,5 cc 2,4-Dinitrofluorbenzol, 1 cc Alkohol und 2 cc gesättigter Natriumbicarbonatlösung versetzt. Man liess über Nacht stehen und schüttelte das Gemisch während 1 Std., wobei sich das Reaktionsprodukt als dunkelgelbes Oel abschied. Dieses haben wir in Chloroform aufgenommen und von der wässerigen Schicht abgetrennt. Den Chloroformauszug schüttelte man mehrmals mit 2 cc 2n-NaOH und anschliessend mit Wasser bis zur neutralen Reaktion. Der Chloroformextrakt wurde durch Watte filtriert, im Vacuum eingedampft und der Rückstand in 2n-HCl gelöst. Die salzsaure Lösung hat man zweimal mit Aether ausgezogen und im Vacuum zur Trockne gebracht. Das Salz wurde unter Rückfluss in 5 cc Essigester und 2 cc Alkohol gelöst, diese Lösung filtriert und auf 2 cc eingengt, worauf das Dinitrophenylpalustrin in schönen gelben Prismen kristallisierte. Smp. 219° (Block, uncorr.). Nach Umkristallisieren aus verdünnter Salzsäure und Trocknen bei 100° / 0,03 mm schmolz das Produkt unter Zersetzung bei $226 - 227^{\circ}$.

$C_{17}H_{30}O_2N_3 \cdot C_6H_3O_4N_2 \cdot HCl$	Ber.	C 53,95	H 6,69	N 13,68	Cl 6,93%
(512,01)	Gef.	" 53,96	H 6,51	N 13,14 %	

V. REAKTION VON PALUSTRIN MIT METHYLJODID UND SILBEROXYD

100 mg Palustrin in 10 cc Methanol hat man mit 950 mg (20 Mole) CH_3J und 1400 mg (20 Mole) Ag_2O geschüttelt und anschliessend am Rückfluss während 20 Std. erwärmt.

Nun wurde vom AgJ und vom überschüssigen Ag_2O abgetrennt, mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, nochmals filtriert und im Wasserstrahlvakuum bei 50° zur Trockene verdampft.

Das Rohprodukt zeigte auf dem Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck mit Rf. 0,09 (Palustrin 0,14).

Da es nicht zur Kristallisation zu bringen war, haben wir es in Alkohol aufgenommen und mit Pikrinsäure im Ueberschuss gefällt. Das abfiltrierte Pikrat hat man vom Lösungsmittel befreit und dreimal mit Aether ausgekocht, um anhaftende Pikrinsäure zu entfernen. Aus Methanol umkristallisiert erhielt man das Methylpalustrin-dipikrat in dunkelgelben Nadeln vom Smp. $196,5^{\circ}$ (Zersetzung).

$C_{30}H_{39}N_9O_{16}$	Ber.	C 46,09	H 5,03	N 16,13 %
(781,69)	Gef.	C 46,39	H 5,06	N 15,70 %

Es ist eine $-CH_3$ -Gruppe in das Palustrinmolekül eingetreten.

Va. PALUSTRINJODMETHYLAT-HYDROJODID

In einem zweiten Ansatz haben wir 200 mg Palustrin in analoger Weise mit Methyljodid umgesetzt. An Stelle von Salzsäure wurde mit verdünnter Jodwasserstoffsäure neutralisiert und im übrigen gleich verfahren wie oben.

Das Rohprodukt liess sich aus Aceton-Alkohol nach längerem Stehen kristallisieren und bildete farblose Nadeln vom Smp. 183° (Z.).

$C_{18}H_{35}N_3O_2J_2$	Ber.	C 37,32	H 6,09	N 7,25	J 43,82 %
(579,33)	Gef.	C 36,99	H 6,19	N 6,17	J 44,10 %
			(0,64 % Rückstand ber.)		

VI. VERSUCHTE METHYLIERUNG VON PALUSTRIN NACH ESCHWEILER

Analog einem Modellversuch mit Cytisin, der genau nach den Angaben der Literatur (58) verlief, methylierte man Palustrin. 50 mg Palustrin, 155 mg (12 Mole) Formaldehyd und 270 mg Ameisensäure (36 Mole) wurden während 10 Minuten in einem offenen Röhrchen auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, wobei unter Gasentwicklung eine Reaktion eintrat. Dann hat man das Röhrchen zugeschmolzen und weitere 8 Std. erhitzt. Nun setzte man 5 cc Wasser und 2 cc HCl 2n hinzu und extrahierte fünf Mal mit je 10 cc Chloroform. Diese Auszüge wurden zweimal mit 10 cc Wasser gewaschen und das Waschwasser zur sauren Alkaloidlösung gegeben. Darauf extrahierte man die mit KOH freigesetzte Base mit Chloroform und destillierte sie im Kugelrohr.

Bei $0,05$ mm ging zwischen $165-170^{\circ}$ eine fast farblose Substanz über. Nach dem Papierchromatogramm zu schliessen, musste es sich wieder um die Ausgangssubstanz handeln. Das Chloroplatinat stimmte im Smp. von 222° mit demjenigen des entsprechenden Palustrinsalzes überein, der Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression.

$C_{17}H_{31}N_3O_2$, H_2PtCl_6	Ber.	C 28,38	H 4,62	Pt 27,14 %
(719,44)	Gef.	C 28,62	H 4,71	Pt 26,32 %

Wäre eine CH_3 -Gruppe eingetreten, so müsste der C-Gehalt 1 % höher liegen. Schmelzpunkt und Analyse deuten darauf hin, dass keine Methylierung stattgefunden hat.

VII. SAURE VERSEIFUNG VON PALUSTRINDIHYDROCHLORID

In einem Vorversuch wurden 20 mg Palustrinhydrochlorid mit 5 cc 15 %iger HCl zum Sieden erhitzt und dem Reaktionsgemisch nach verschiedener Einwirkungs-
dauer Proben entnommen. Diese hat man papierchromatographisch untersucht, wo-
bei der Ablauf der Verseifung sehr schön sichtbar wurde.

Zeit	Palustrin-	Verseifungsprod. -Fleck
0	Ref. 0,12	---
10 Min.	+++	---
20 "	+++	schwach erkennbar
30 "	+++	deutlich erkennbar
1 Std.	++	+
1 1/2 "	+	++
2 "	+	++
2 1/2 "	--	+++
3 "	---	+++ Rf. 0,02

Das Verseifungsprodukt war nach 2 1/2 Std. praktisch einheitlich, Palustrin
erschien nicht mehr auf dem Chromatogramm. Das Spaltprodukt gab mit Schlitt-
ler-Reagens (61) nicht mehr die typische Farbe.

In einem grösseren Ansatz hat man 60 mg Palustrin mit 10 cc 20%iger HCl
während 4 Std. verseift. Die Beendigung der Reaktion wurde mit einem Papier-
chromatogramm untersucht. Der gefundene Rf. -Wert des Verseifungsproduktes
deckte sich mit dem im Vorversuch gefundenen. Palustrin war keines mehr nach-
weisbar, die Reaktion verlief demnach vollständig. Die überschüssige Salzsäure
dampfte man bei 40-50° im Vakuum ein und nahm den Rückstand in 50 %igem
Methanol auf. Da das Pikrat aus keinem der gebräuchlichen Lösungsmittel zur
Kristallisation zu bringen war, haben wir das Pikrolonat hergestellt. Die warme,
methanolische Lösung des Hydrolysates wurde mit einer heiss gesättigten Pikrolon-
säurelösung versetzt und einige Stunden langsam abkühlen gelassen. Dabei kristalli-
sierte das Pikrolonat, konnte filtriert und umkristallisiert werden. Dieses wurde
4 Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet, sinterte bei 190°, schmolz bei 198°
und erlitt bei 200° Zersetzung.

C₄₇H₅₇O₁₈N₁₅ Ber. C 50,40 H 5,13 N 18,76 %

(1120,05) 3 Pikrolonsäurereste im Molekül.

Gef. C 50,60 H 5,31 N 18,47 %

Da das spektroskopisch ermittelte Mol. -Gew. nicht stimmte, wurde die Verbindung ein zweites Mal umkristallisiert. Diesmal setzte man dem Lösungsmittel eine Spur Pikrolonsäure zu, um einer allfälligen Dissoziation des Derivates entgegenzuwirken.

C ₄₇ H ₅₇ O ₁₈ N ₁₅ (1120,05)	Ber.	C 50,40	H 5,13	N 18,76	NH ₂ 1,43 %	(van Slyke)
	Gef.	C 49,66	H 5,12	N 17,55	NH ₂ 1,37 %	" "
					NH ₂ 1,44 %	" "

Mol. Gewicht 1050 (spektrophotometrisch gef.)

Diese Verseifung hat folgendes ergeben : Das Palustringerüst wurde durch Ringsprengung verändert. Dabei ist eine NH₂-Gruppe aufgetreten, wie sich aus der Anzahl der aufgenommenen Pikrolonsäuremoleküle (3 gegenüber 2 im ursprünglichen Palustrin) und aus der van Slyke-Bestimmung (Palustrin, v.Sl. = 0,0; verseiftes Palustrin, v.Sl. 1,44 = 1 NH₂-) ergab.

VIII. DURCHGREIFENDER CHROMSÄURE-ABBAU VON PALUSTRIN

120 mg Palustrin wurden mit 0,50 gr CrO₃, 1,2 cc Wasser und 0,40 cc H₂SO₄ während 1 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt (62). Nach Zufügen der gleichen Menge obiger Reagenzien hat man das Gemisch während weiterer 45 Std. bei derselben Temperatur oxydiert. Die nicht verbrauchte Chromsäure zerstörte man durch Einleiten von SO₂ und zog die saure Lösung während 50 Std. im Flüssigkeitsextraktor mit Aether aus. Nach dem Trocknen und Vertreiben des Aethers hinterblieben 30 mg Rückstand, die im Kugelrohr sublimiert wurden. Bei 80 - 100° und 0,04 mm Hg gingen Kristalle und wenig eines gelben Oeles über. Erstere befreite man durch Waschen mit kaltem Aether vom anhaftenden Oel und kristallisierte sie um. Sie zeigten einen Smp. von 178°. Eine zweite Kristallisation ergab einen Smp. von 181°. Dieser deutete darauf hin, dass es sich bei der gefundenen Säure um Bernsteinsäure handeln könnte, worauf ein authentisches Produkt unter denselben Umständen kristallisiert wurde. Dieses besass den einen Smp. von 182,5 - 184,5°. Ein Mischschmelzpunkt der gefundenen mit authentischer Bernsteinsäure bestimmte man zu 182°, womit die Identität der beiden Säuren bewiesen sein dürfte.

Zur Bestätigung dieses Ergebnisses untersuchten wir die Mutterlauge der Abbausäure auf einem Papierchromatogramm (Lösungsmittel: Alkohol 96% 95 cc, NH₄OH konz. 5 cc, Wasser 5 cc, Indikator: Bromkresolpurpur, Trocknung während 2 Std. bei 50°, besprüht mit dem Indikator und kurz über NH₃-Dämpfe ge-

halten, wobei die Säure als gelber Fleck auf blauem Grund erschien). Es wurden folgende Rf. -Werte festgestellt :

Abbausäure aus Palustrin	0,26
authent. Bernsteinsäure	0,26
Methylbernsteinsäure	0,32
Adipinsäure	0,36
Malonsäure	0,15

Bei der, durch oxydativen Abbau des Palustrins entstandenen Säure handelt es sich demnach eindeutig um Bernsteinsäure.

Die von der Bernsteinsäure befreite, saure, wässrige Lösung wurde mit einer heiss gesättigten, siedenden Bariumhydroxydlösung neutralisiert und mit 10 % überschüssigem Baryt alkalisch gemacht. Nun hat man das ausgefällte BaSO_4 und Chromsulfat abfiltriert und mit heissem Wasser alkalifrei gewaschen. Das Filtrat wurde während 5 Min. zum Sieden erhitzt, im Vakuum bis auf wenige cc eingengt und der Rückstand im Apparat mit Aether während 12 Std. extrahiert. Nach dem Verdampfen des Aethers hinterblieb nur eine Spur eines Rückstandes, der verworfen wurde. In die wässrige Lösung leitete man CO_2 ein, wobei BaCO_3 ausfiel, das man abfiltrierte. Filtrat und Waschwasser wurden im Vakuum eingengt und der trockene Rückstand in 5 cc Alkohol 50 % aufgenommen. Nach nochmaligem Einleiten von CO_2 , Filtration und Einengen hinterblieben 50 mg Aminosäuregemisch als Rückstand.

Diese Aminosäuren wurden papierchromatographisch untersucht ; die Rf. -Werte sind die folgenden :

	0,31	ident. mit α -Aminobuttersäure, 0,30
	0,22	ident. mit β -Alanin, 0,22
sehr wenig	0,15	, nicht identifiziert, (X)
	0,09	, nicht identifiziert, (Y)

Zwischen X und Y liegt Glykokoll mit 0,13 (Vergleich)

Als zweites Lösungsmittel verwendeten wir Pyridin mit 35 % Wasser :

Rf. -Werte:	0,50, ident. mit α -Aminobuttersäure
	0,46, ident. mit β -Alanin
	0,38, nicht identifiziert (Y)

Ein drittes Chromatogramm in wässrigem Collidin ergab gleiche Rf. -Werte für α -Aminobuttersäure, β -Alanin und Glycin (alles Vergleichssubstanzen, alle 0,12) und ist daher nicht signifikant. Die in grösserer Menge anwesende un-

bekannte Säure Y zeigte einen Rf.-Wert von 0,045, was die erste Vermutung, dass es sich bei Y vielleicht um Glycin handelt, widerlegte.

Wir unternahmen noch weitere Versuche zur Identifizierung der unbekannten Aminosäure Y. Neben den Abbauprodukten wurden folgende Verbindungen als Vergleichssubstanzen auf den Papierchromatogrammen laufen gelassen: Glycin, Threonin, Ornithin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, α , β -Diaminobuttersäure. Keine dieser Aminosäuren erwies sich als identisch mit Y oder X. Auf Chromatogrammen, auf denen das Aminosäurengemisch in verschiedener Konzentration aufgetragen wurde, konnten neben X und Y noch weitere Flecken mit dicht daneben liegenden Rf.-Werten erkannt werden, doch waren auch diese mit keiner der obigen Vergleichssubstanzen identisch. Klarheit über die in wesentlicher Menge vorhandenen Aminosäure Y dürfte erst erhalten werden, wenn eine grössere Menge Palustrin abgebaut werden kann und die Abbau-Aminosäuren quantitativ an einer Papiersäule getrennt werden können. Es sollte dann möglich sein, die Unbekannte rein zu isolieren und sie durch Derivate und Analyse zu charakterisieren.

Zusammenfassend wurden beim oxydativen Abbau von Palustrin mit Chromsäure Bernsteinsäure, β -Aminobuttersäure und β -Alanin erhalten.

IX. DURCHGREIFENDER CHROMSÄURE-ABBAU VON DESOXYPALUSTRIN

Dieser, mit 50 mg Substanz durchgeführte analoge Abbau ergab dieselben Abbauprodukte: β -Aminobuttersäure und β -Alanin. Die Identifikation erfolgte auch hier mittels Papierchromatogrammen. Möglicherweise ist bei diesem Abbau auch etwas Glykokoll entstanden. Auf zwei verschiedenen Papierchromatogrammen liegt ein kleiner Fleck, herrührend von den Oxydationsprodukten, dicht neben dem Vergleichsfleck von Glykokoll. Ähnliches ist zu sagen von der Aminosäure X (s. oben), die hier unmittelbar neben der Glutaminsäure liegt.

X. REDUKTION VON PALUSTRIN MIT LiAlH_4 (DESOXPALUSTRIN)

150 mg Palustrin und ca. 120 mg Palustrin-Mutterlaugen wurden im Vakuum über P_2O_5 getrocknet und in die Hülse einer kleinen Soxhlet-Apparatur gebracht. Das Kölbchen beschickte man mit 10 cc Aether und 10 cc einer klaren LiAlH_4 -Lösung, entsprechend ca. 360 mg LiAlH_4 . Dann erhitze man zum Sieden, wobei der Aether das Palustrin langsam in die reduzierende Lösung hineinextrahierte. Nach 6 Std. war alles Palustrin gelöst, worauf noch weitere 18 Std. erhitzt wurde.

Das überschüssige Reduktionsmittel hat man nun mit feuchtem Aether und einigen Tropfen Wasser zerstört, die Lösung von den Metallhydroxyden abfiltriert und diese in einer Soxhletapparatur während 5 Std. mit Aether extrahiert. Nachdem das Lösungsmittel abdestilliert worden war, fraktionierte man das zurückgebliebene Desoxypalustrin im Kugelrohr. Das, bei $120-150^{\circ}$ / 0,01 mm übergegangene gelbliche Oel wurde einer zweiten Kugelrohrdestillation unterworfen und ein Vorlauf (bis 120° / 0,001 mm), eine Hauptfraktion ($120-135^{\circ}$ / 0,001 mm) und ein Nachlauf ($135-145^{\circ}$ / 0,001 mm) abgetrennt. Vor- und Nachlauf betragen nur wenige mg.

$C_{17}H_{33}N_3O$	Ber. C 69,10	H 11,26	N 14,22 %	Hauptfraktion
(295,46)	Gef. C 68,84	H 10,91	N 13,58 %	

Auf dem Papierchromatogramm wandert Desoxypalustrin langsamer als Palustrin. Rf. 0,05 / 0,06 (Palustrin Rf. 0,12 / 0,14).

Es sei darauf hingewiesen, dass die Reduktion des Palustrins nur einigermassen quantitativ verläuft, wenn nach oben beschriebener Methode gearbeitet wird. Vorversuche, die nicht mit einer klaren $LiAlH_4$ -Lösung, sondern mit einer Menge des käuflichen, festen Reduktionsmittels angestellt wurden, führten zu unverhältnismässig kleinen Ausbeuten. Es muss angenommen werden, dass die stark basischen Verunreinigungen des $LiAlH_4$ das Palustrinmolekül zerstören.

XI. DESOXPALUSTRIN-DIPIKROLONAT

Das ölige Desoxypalustrin, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde in Methanol gelöst und mit methyl-alkoholischer Pikrolonsäure versetzt. Dann dampfte man die Lösung auf dem Wasserbad ein, wobei das Pikrolonat, neben Pikrolonsäure als dunkelgelbes Oel zurückblieb. Dieses wurde in 80 %igem Methanol gelöst und kristallisieren gelassen. Unter Zusatz einer Spur Pikrolonsäure haben wir es aus demselben Lösungsmittel umkristallisiert und das abfiltrierte Produkt während 3 Std. mit Aether ausgekocht, um die anhaftende Pikrolonsäure zu eliminieren. Das im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknete Salz sinterte bei 180° , schmolz bei $182-183^{\circ}$ und zersetzte sich ab 186° . (Smp. im evakuierten Röhrchen).

$C_{37}H_{49}N_{11}O_{11}$	Ber. C 53,94	H 6,00	N 18,70 %
(823,86)	Gef. C 53,50	H 6,24	N 17,50 %

XII. REAKTION VON DESOXYPALUSTRIN MIT METHYLIODID

Desoxypalustrin haben wir mit Methyljodid, Methanol und Benzol während 5 Std. am Rückfluss zum Sieden erhitzt, die Lösungsmittel im Vakuum verjagt und versucht, das Jodmethylat zu kristallisieren. Da sich auch das Pikrat nur als schmieriger Niederschlag erhalten liess, stellte man das Pikrolonat her. Dieses wurde im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 während 4 Std. getrocknet und ergab einen Smp. von 155°.

$C_{48}H_{62}N_{15}O_{16}$	Ber. C 52,17	H 5,66 %	enthaltend 1 CH_3^- und 3 Pikrolonsäurereste.
(1105,10)	Gef. C 52,90	H 5,48 %	(5,15 % Rückstand ber.)
	Gef. C 51,73	H 5,15 %	(1,36 % Rückstand ber.)

Diese Formel ist aber fraglich, die Substanz muss erneut hergestellt und die Analyse wiederholt werden.

XIII. DIHYDROPALUSTRIN

0,1584 gr Palustrindihydrochlorid haben wir in wässriger Lösung mit 20 mg PtO_2 als Katalysator hydriert. Dabei wurden 11,14 cc H_2 (Normalbed.) aufgenommen, was, bei einem berechneten Verbrauch für eine Doppelbindung von 9,37 cc 1,19 Mole beträgt.

Wir haben die wässrige Lösung im Vakuum eingeengt und versucht, das Dihydropalustrin-dihydrochlorid zu kristallisieren, was jedoch nicht gelang. Die daraus in Freiheit gesetzte Base kristallisierte gleichfalls nicht. Auch nach deren Reinigung mit Hilfe eines Durchlaufchromatogrammes an Al_2O_3 konnten keine Kristalle erhalten werden.

Aus der Base hat man das Monohydrochlorid hergestellt. Dazu säuerte man sie mit verdünnter HCl an, versetzte mit einem Ueberschuss an Natriumbicarbonat und extrahierte das Monohydrochlorid mit Chloroform. Diese Lösung wurde wieder an Al_2O_3 (Aktivität II) chromatographiert und sieben Fraktionen genommen. Keine davon kristallisierte.

Es wurde nun versucht, mit Oxalsäure, Pikrin- Pikramin- Platinchlorwasserstoff- und Reineckesäure Salze zu erhalten. Nur das letztere kristallisierte und konnte aus wässrigem Aceton umkristallisiert werden. Leider besass es keinen scharfen Schmelzpunkt und ist auch für eine Analyse ungeeignet.



In einem weiteren Ansatz haben wir 500 mg Palustrindihydrochlorid katalytisch hydriert, wobei 1,11 Mole H_2 aufgenommen wurden. Die mit KOH in Freiheit gesetzte Base kristallisierte nach kurzem Stehenlassen aus Aceton. Die hygroskopischen Blättchen wuschen wir mit absolutem Aether und trockneten sie im Hochvakuum bei 50° . Unter Abgabe von Lösungsmittel schmolzen sie bei ca. 70° (unscharf).

Das noch leicht gelbliche Dihydropalustrin wurde in einem kleinen Soxhlet in Aether gelöst und kristallisieren gelassen. Man erhielt ein reinweisses Produkt, das bei $93-94^\circ$ sinterte und bei 96° klar schmolz.

$C_{17}H_{33}N_3O_2$	Ber.	C 65,55	H 10,68 %
(311,46)	Gef.	C 65,10	H 10,80 %

Dihydropalustrin liess sich im Kugelrohr bei $130-140^\circ / 0,001$ mm destillieren. Das zunächst fast farblose, viskose Oel erstarrte nach Anreiben mit DP-Kristallen zu einer weissen, kristallinen Masse.

$C_{17}H_{33}N_3O_2$	Ber.	C 65,55	H 10,68	N 13,49 %
(311,46)	Gef.	C 63,95	H 10,28	N 13,36 %

Der Rf.-Wert von Dihydropalustrin ist demjenigen des Palustrins so ähnlich, dass die beiden Verbindungen papierchromatographisch nicht getrennt werden können.

XIV. OPTISCHE DREHUNG DES DIHYDROPALUSTRINS

0,0150 gr DP (freie Base) in 1,7918 gr Wasser ergaben folgende Drehungen bei $18^\circ C$: (Durchschnitt von je 10 Ablesungen, Nullpunktskorrektur berücksichtigt).

Ablesungen Dr. Eugster:	+ 0,279 $^\circ$	$[\alpha]_D^{18^\circ} = + 33,7^\circ$
eigene Ablesungen :	+ 0,286 $^\circ$	$[\alpha]_D^{18^\circ} = + 34,7^\circ$

Die Hydrierung veränderte das optische Verhalten des Moleküls stark. Palustrin (Base) hat bei 18° eine spezifische Drehung von $+ 15,8^\circ$ (35).

XV. REAKTION VON DIHYDROPALUSTRIN MIT p-NITROBENZOYLCHLORID

50 mg Dihydropalustrin (DP)-Base hat man in 1 cc trockenem Pyridin gelöst und eine konzentrierte Lösung von 45 mg p-Nitrobenzoylchlorid in Pyridin beigefügt. Das Gemisch färbte sich sofort tief rot. Nachdem es über Nacht bei

Zimmertemperatur gestanden hatte, erwärmte man es während 2 Std. auf dem Wasserbade, kühlte in Eiswasser und goss es in 5 cc einer gesättigten Natriumbicarbonat-Lösung. Nach einigen Minuten schieden sich NaCl-Kristalle ab, worauf das Reaktionsprodukt mit Aether erschöpfend ausgezogen wurde. Das mitgegangene Pyridin hat man am Wasserstrahlvakuum vertrieben und den öligen Rückstand aus Benzol-Alkohol kristallisiert. Die graugelben Kriställchen schmolzen bei 199°. Die Ausbeute war unverhältnismässig gering und ausserdem enthielt das Produkt noch Halogen, wie die entsprechende Probe nach Lassaigne ergab. Die Analyse stimmte weder für DP-p-nitrobenzoat noch für DP-p-nitrobenzoat-monohydrochlorid.

$C_{24}H_{37}O_5N_4Cl$	Ber.	C 58,00	H 7,51	N 11,27 %
(497,03)	Gef.	C 59,54	H 7,05	N 10,11 %

Ein zweiter Versuch, das p-Nitrobenzoat zu erhalten, ging von 100 mg DP aus. Dieses wurde mit 170 mg p-Nitrobenzoylchlorid in 1 cc Pyridin während 2 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Das Reaktionsgemisch hat man bei diesem Ansatz in eiskalte Sodalösung gegossen, damit nicht wieder ein HCl-haltiges Derivat entstehen sollte. Nach einer analogen Aufarbeitung schlugen alle Versuche, das Produkt zu kristallisieren, fehl. Wohl haben wir einige wenige Kristallindividuen erhalten, doch in einer derart ungenügenden Ausbeute, dass damit keine Charakterisierung möglich war.

XVI. REAKTION VON DIHYDROPALUSTRIN MIT THIONYLCHLORID

100 mg DP-Base wurden in 4 cc Thionylchlorid während 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Das tiefrote Reaktionsprodukt kühlte man in Eis, machte mit Sodalösung alkalisch und extrahierte mit Chloroform. Das Produkt war total verharzt.

XVII. REAKTION VON DIHYDROPALUSTRIN MIT ESSIGSÄUREANHYDRID

50 mg DP-Dihydrochlorid haben wir mit 1 cc Essigsäureanhydrid während 30 Min. auf dem Wasserbad erwärmt. Dann hat man das überschüssige Anhydrid am Wasserstrahlvakuum verjagt, den Rückstand zweimal mit Alkohol versetzt und zur Trockene eingedampft. Die weisse, amorphe Masse konnte weder aus Methanol, Alkohol, Essigester noch aus Aceton kristallin erhalten werden. Sie wurde nun mit ammoniakgesättigtem Aether verrieben und die Lösung auf 2 cc eingeengt. Bei -20° flockte das Derivat aus und ging schon bei 5° wieder in Lösung.

Verseifungsversuche. Acetyl-DP wurde auf drei Arten verseift:

- a) bei 100° mit 2n-KOH, 30 Min.
- b) bei 20° mit 2n-KOH, 4 Std.
- c) bei 80° mit 2n-HCl, 1 Std.

Die papierchromatographische Untersuchung ergab folgendes Bild:

Dihydropalustrin	Rf. 0,13
Acetyl-DP	0,48
Verseifung a)	0,34
Verseifung b)	0,35
Verseifung c)	0,35

Daraus ist ersichtlich, dass das DP durch Essigsäureanhydrid tatsächlich verändert wurde und dass die Verseifung, unabhängig von der Art ihrer Ausführung, nicht mehr zum Ausgangsmaterial DP führt. Wahrscheinlich hat das Molekül durch die Verseifung eine tiefgreifende, noch nicht näher abgeklärte Veränderung erlitten. Bemerkenswert ist, dass sowohl die alkalische, wie auch die saure Verseifung offensichtlich zu ein und demselben Produkt führen.

In einem weiteren Ansatz wurden 100 mg DP auf analoge Weise acetyliert. Die freie Base, die man durch Behandeln mit eiskalter Sodalösung und nachfolgender Extraktion mit Chloroform gewonnen hatte, versuchte man im Molekularevakuum zu sublimieren. Bis 150° Badtemperatur sublimierte eine geringe Menge einer bräunlichen Substanz, deren Untersuchung noch aussteht.

Rohes Acetyl-DP hat man mit gleichen Teilen Methyljodid und Benzol während 2 Std. am Rückfluss erhitzt. Nachdem überschüssiges Methyljodid und Lösungsmittel vertrieben waren, wurde versucht den Rückstand aus Alkohol, Methanol und Aceton zur Kristallisation zu bringen. Der Erfolg blieb aus, auch gelang es nicht, das Pikrat und das Platinsalz des Reaktionsproduktes kristallin zu erhalten.

XVIII. REAKTION VON DIHYDROPALUSTRIN MIT METHYLJODID

Ca. 70 mg Dihydropalustrin wurden in wenig Methanol gelöst, mit 3 cc Methyljodid versetzt und 2 Std. am Rückfluss gekocht. Das dabei gebildete Jodmethylat kristallisierte in weissen Blättchen aus Methanol-Alkohol-Aether und schmolz unter Zersetzung bei 202°. Aus der Mutterlauge erhielten wir ebenfalls Kristalle, die man mit den ersten vereinigte und umkristallisierte. Das Jodmethylat wurde im Exsikkator über CaCl₂ getrocknet und der Schmelzpunkt zu

203° (Zersetzung) bestimmt. Es konnte beobachtet werden, dass die Kristalle bei etwas über 100° Lösungsmittel abgeben.

$C_{17}H_{33}O_2N_3 \cdot 2 CH_3J \cdot H_2O$ (613,38)	Ber.	C 37,20	H 6,74	N 6,85	J 41,38 %
	Gef.	C 37,56	H 7,15	N 6,18	J 39,32 %
		(0,36 % Rückstand ber.)			

$C_{17}H_{33}O_2N_3 \cdot 2 CH_3J \cdot 2H_2O$ (631,40)	Ber.	C 36,14	H 6,87	N 6,66	J 40,20 %
	Gef.	C 37,56	H 7,15	N 6,18	J 39,32 %

XIX. VERSUCHTER HOFMANN'scher ABBAU VON DIHYDROPALUSTRIN

Rohes Dihydropalustrin und Mutterlaugen, zusammen ca. 220 mg wurden mit dem 20-fachen Ueberschuss an CH_3J und Ag_2O während 4 Std. am Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsprodukt hat man abfiltriert und bei 20 - 25° im Vakuum unter Zugabe von ca. 50 mg KOH auf 2 cc eingeengt.

Diese Lösung erhitzte man in einer Destillationsapparatur unter Zutropfenlassen von 2n-KOH im Vakuum auf 90-100° und leitete das Destillat in 2n-HCl ein, um allfällig frei werdende flüchtige Amine abzufangen. In 30 Min. gingen 15 cc Destillat über. Dieses hat man alkalisch gemacht, destilliert und die Dämpfe in vorgelegte konzentrierte Pikrinsäure (in Wasser) eingeleitet. Es bildete sich kein Niederschlag. Offenbar wurde kein flüchtiges Amin abgespalten.

Der Rückstand der ersten Destillation wurde mit Chloroform und anschliessend mit Aether ausgezogen. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels hinterblieb eine ganz geringe Menge Rückstand, den wir nicht weiter untersuchten.

Den alkalischen Rückstand dieser Extraktion erwärmte man nochmals in der ersten Apparatur bis auf 160°, diesmal unter Atmosphärendruck, und leitete die Dämpfe direkt in konzentrierte wässrige Pikrinsäure ein. Wieder zeigte sich kein Niederschlag, also ist auch bei dieser höheren Temperatur keine flüchtige Base in Freiheit gesetzt worden. Es wurde nun versucht, den alkalischen Rückstand mit Chloroform und Aether auszuziehen. Nach Vertreiben des Lösungsmittels blieb wiederum nur eine Spur eines Extraktes zurück, der ebenfalls nicht weiter untersucht wurde.

Aus diesen Versuchen muss geschlossen werden, dass beim ersten Erhitzen mit KOH auf 100° bereits eine tiefgreifende Veränderung des Moleküls stattgefunden hat. Möglicherweise entstanden durch Ringsprengung Aminosäuren, die sich in der Folge nicht mehr aus der alkalischen Lösung extrahieren liessen.

XX. EQUISETUM SILVATICUM

Isolierung von Nicotin

Die Gesamt-Rohbasen von 30 kg Pflanzenmaterial wurden im Kugelrohr destilliert. Bis 110° / 12 mm erhielt man ein gelbes, typisch riechendes Öl, das auf dem Papierchromatogramm den für Nicotin charakteristischen Wert von 0,05 ergab. Die Base haben wir in Äther gelöst, mit ätherischer Pikrinsäure gefällt, filtriert und die überschüssige Pikrinsäure mit Äther ausgekocht. Das Nicotin-pikrat besaß nach dreimaligem Umkristallisieren aus Alkohol-Äther einen Smp. von $216-218^{\circ}$. Mischschmelzpunkt 216° .

Die Anwesenheit von Nicotin in *Equisetum silvaticum* war damit erwiesen.

Versuchter Nachweis von Dimethylsulfon im Benzolextrakt

Dieser Extrakt wurde entsprechend dem Schema von P. Karrer, C.H. Eugster und D.K. Patel (22) aufgearbeitet und der korrespondierende Auszug auf die Anwesenheit von Dimethylsulfon untersucht. Bei einer Destillation verlor man durch Missgeschick einen Teil der Fraktion, die das Dimethylsulfon enthalten sollte, sodass mit dem verbliebenen Rest nur noch eine quantitative Prüfung auf Schwefel durchgeführt werden konnte. Die Substanz hat man nach der mikrochemischen Methode von Zimmermann aufgeschlossen, die Lösung mit Salzsäure angesäuert und den beim Erwärmen flüchtige Schwefelwasserstoff mit einem feuchten Bleiacetatpapier abgefangen. Es bildete sich ein stark brauner Fleck von Bleisulfid, währenddem eine entsprechende Blindprobe das Bleireagens nicht färbte. Authentisches Dimethylsulfon gab ebenfalls einen intensiv braunen Flecken.

Es ist möglich, dass die Schwefelreaktion eines Destillates von *Equisetum silvaticum* von Dimethylsulfon herrührt.

XXI. EQUISETUM LIMOSUM

Isolierung von Dimethylsulfon

Der, das Dimethylsulfon enthaltende Extrakt (vergl. Zitat 22) wurde im Kugelrohr destilliert. Man trennte eine Fraktion von $80-110^{\circ}$ / 0,05 mm und eine zweite von $110-120^{\circ}$ / 0,05 mm ab. Beide zeigten nach dem Aufschluss mit Kalium eine intensive Schwefelreaktion auf Bleiacetat und beide reagierten deutlich sauer auf Lackmus. Man hat sie daher vereinigt, in absolutem Äther gelöst, die Säuren durch Einleiten von getrocknetem NH_3 ausgefällt, abfiltriert und

schliesslich das Lösungsmittel verdampft. Den Rückstand haben wir im Kugelrohr bei $90^{\circ}/12$ mm langsam destilliert. Das Destillat enthielt neben gelblichen Oeles wenige Kristalle einer farblosen Substanz. Diese wurden durch Auswaschen mit gekühltem Aether gereinigt und deren Smp. unter dem Mikroskop zu $107-108^{\circ}$ bestimmt. Ein "Mischschmelzpunkt" mit Dimethylsulfon, das unter denselben Bedingungen sublimiert worden war, ergab keine Depression. Leider war die Ausbeute zu gering, als dass damit eine Analyse hätte ausgeführt werden können, doch darf die Anwesenheit von Dimethylsulfon auf Grund dieses Ergebnisses wohl als gesichert angenommen werden.

An Basen konnten durch papierchromatographische Untersuchung des Gesamtbasenextraktes festgestellt werden: Nicotin, Palustrin, Palustridin und drei weitere, nicht identifizierte Alkaloide.

XXII. UNTERSUCHUNG VON EQUISETUM PALUSTRE AUF FETTSÄUREN

P. Karrer und Mitarbeiter fanden im Sumpfschachtelhalm eine Fettsäure, die sie aber nicht weiter untersuchten. Ein Teil dieser vorliegenden Arbeit befasste sich deshalb auch mit der Charakterisierung von Fettsäuren, die aus Equisetum palustre isoliert werden konnten:

Der von den Basen befreite Benzolextrakt wurde mit methanolischer, 12%iger KOH verseift. Dann hat man die Neutralstoffe entfernt und schliesslich die Fettsäuren mittels Schwefelsäure in Freiheit gesetzt. Sie wurden mit Aether/Petroläther ausgezogen, getrocknet, eingedampft und mit abs. Methanol unter Zugabe von 1 % Schwefelsäure während 4 Std. am Rückflusskühler erhitzt. Nach dieser Zeit erneuerte man das Methanol und veresterte weitere 4 Std. Die Lösung des Esters in Aether wusch man mit verdünnter Sodalösung neutral, trocknete sie und entfernte schliesslich das Lösungsmittel. Das Fettsäureestergemisch haben wir fraktioniert und die mittlere Fraktion von $100-153^{\circ} / 0,03$ mm ein zweites Mal destilliert. Den Hauptanteil, der von $140,2-142,5^{\circ} / 0,02$ mm übergang, verwendeten wir für die folgenden Untersuchungen.

Isolierung von Palmitinsäure

Ein Teil des durch Fraktionierung gewonnenen Estergemisches wurde verseift, die Säuren in Freiheit gesetzt und diese aus Petroläther kristallisiert. Smp. $62,5-63^{\circ}$. Die Mutterlauge hat man für die später beschriebenen Versuche verwendet. Die Kristalle, weisse Blättchen, sublimierte man im Kugelrohr bei $125^{\circ} / 0,04$ mm.

Palmitinsäure:	Ber.	C 75,00	H 12,50 %
	Gef.	C 74,87	H 12,18 %

p-Bromphenacylderivat

Smp. $82,5^{\circ}$, Mischschmp. mit authentischem Palmitinsäure-p-bromphenacyl-ester $82,8^{\circ}$, keine Depression.

	Ber.	C 63,10	H 8,16 %
	Gef.	C 62,99	H 8,20 %

Das gelbliche Oel, dessen Geruch stark an Leinöl erinnerte, addierte eine beträchtliche Menge Brom. Es wurde daher eine katalytische Hydrierung dieses Estergemisches durchgeführt :

Isolierung von Stearinsäure

500 mg Ester haben wir mit 95 cc H_2 erschöpfend hydriert, das Lösungsmittel, Eisessig, im Vakuum verjagt und die zurückbleibende, feste Substanz mit methanolischem KOH verseift, angesäuert und mit Aether ausgezogen. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Aceton blieb der Smp. konstant $68-69^{\circ}$. Diese Fettsäure wurde aus einem Kugelrohr sublimiert ($155^{\circ} / 0,04$ mm) und lieferte die Analyse :

Stearinsäure	Ber.	C 75,98	H 12,75 %
	Gef.	C 75,84	H 12,75 %

Die sublimierte Säure schmolz bei $69-69,5^{\circ}$ und ergab keine Depression des Mischsmp. mit authentischer Stearinsäure.

p-Bromphenacylderivat

Dessen Smp. lag bei $88,5-89,2^{\circ}$ und zeigte ebenfalls keine Depression im Mischsmp. mit dem entsprechenden Derivat von authentischer Stearinsäure.

Auf Grund dieser Versuche kommt der ungesättigten Fettsäure eine C_{18} -Kette zu.

Die reichlich angefallene Mutterlauge von der Palmitinsäure-Isolierung (s. oben) wurde nun auf die ungesättigte C_{18} -Säure untersucht.

Bromaddition

1 gr der Mutterlauge hat man in 20 cc Petroläther gelöst, auf -5° gekühlt und aus einer Kapillare im Verlauf einer Viertelstunde einen geringen Ueberschuss von Brom zutropfen gelassen. Dabei fiel das Bromid körnig aus, wurde abfiltriert und bis zum konstanten Smp. aus Essigester umkristallisiert. Smp. 178° . Die Literatur gibt für Linolensäurehexabromid den Smp. von 180° an.

Jodzahl nach Hanus. Sie wurde zu 230 bestimmt, während die Literatur für Linolensäure 274 angibt.

Bromid des Esters dieser ungesättigten Säure

Es wurde analog zu oben hergestellt. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol/Aethanol schmolz es bei $154-155^{\circ}$. Die Literatur gibt für authentisches Linolensäuremethylester-hexabromid den Smp. mit $157-159^{\circ}$ an. (Das entsprechende Linolsäurebromid schmilzt bei 56°).

Damit dürfte erwiesen sein, dass es sich bei der ungesättigten Fettsäure um Linolensäure handelt.

AUSFÜHRUNG DER PAPIERCHROMATOGRAMME

Sämtliche Papierchromatogramme wurden mit Filtrierpapier Whatman No. 1 ausgeführt. Als Gefäße dienten Glaszylinder von 10 cm $\varnothing$ und 40 cm Höhe. Da die Raumtemperatur während diesen Versuchen stark schwankte, kommt den angegebenen Rf.-Werten keine absolute Bedeutung zu, d.h. sie sind nicht streng reproduzierbar. Auf allen Streifen wurde jedoch eine Referenzsubstanz laufen gelassen, deren jeweiliger Rf.-Wert in Klammern angegeben ist. Die Laufzeit variiert von 20-24^h. Klimatisierung während 4^h.

Papierchromatogramme von Aminosäuren (59)

Ausführung absteigend,

Lösungsmittel : 4 T. n-Butanol

1 T. Eisessig

wo nichts anderes vermerkt.

5 T. Wasser,

Reagens : Ninhydrin in schwach essigsauerm n-Butanol, Trocknung während 2^h bei $50-60^{\circ}$ dann Besprühen mit dem Reagens und 1^h auf 100° erhitzt.

Papierchromatogramme von Basen : (60)

Ausführung aufsteigend,

Lösungsmittel : 100 cc n-Butanol

5 cc HCl konz.

5 cc Eisessig

Wasser bis zur Sättigung,

Reagens nach Schlittler (61) $KJ + H_2PtCl_6$

Trocknung während genau 1^h im Warmluftstrom von 30-40° C, dann Besprühen mit dem Reagens. Die Basen erschienen als graublaue Flecken auf hellrotem Grund. Wurden die Streifen länger oder bei höherer Temperatur getrocknet, so resultierten meist schmutziggelbe Flecken auf graublauem Grund, oder es zeigte sich überhaupt kein Kontrast.

ERMITTLUNG DES MOLEKULARGEWICHTES VON PIKROLONATEN MIT HILFE SPEKTROSKOPISCHER MESSUNGEN

Methode (vgl. 61). Von einem bekannten Pikrolonat wird eine Vergleichslösung bestimmter Konzentration hergestellt und deren Extinktion gemessen. Mit demselben Lösungsmittel löst man eine etwa äquivalente Menge des unbekannten Pikrolonates im gleichen Volumen und misst bei λ_{max} der ersten Substanz die Extinktion der unbekannten. Anhand untenstehender Formel kann man aus den Messwerten und der Einwaage das Molekulargewicht oder die Anzahl Mole gebundener Pikrolonsäure berechnen. Es bedeuten :

Ms	Mol. -Gewicht der unbekannten Verbindung				
Es	Extinktion	"	"	"	(Ablesung am Apparat)
Ns	Mole geb. Pikrolonsäure in der unbekannten Substanz				
Gs	Einwaage der unbekannten Substanz				

Mv, Ev, Nv, Gv sind die entsprechenden Bezeichnungen für die Vergleichssubstanz.

$$Ms = \frac{Ev \cdot Gs \cdot Mv \cdot Ns}{Es \cdot Gv \cdot Nv}$$

Messungen Die untersuchten Pikrolonate wurden alle in 500 cc Methanol 50 %
(aus demselben Vorrat) gelöst und mit dem Beckman- Spektrophotometer DU
in der 1 cm-Küvette gemessen.

Natrium-Pikrolonat Gv= 1,735 mg, $\lambda_{\max} = 3450 \text{ \AA}$, Ev= 0,265 Mv= 287
(Vergleich)

Cytisin- P. Gs= 1,335 mg, Es= 0,136 / 3450 $\text{\AA}$ Ms= 431 theor. 454

Palustrin-P. Gs= 1,57 mg, Es= 0,166 / 3450 $\text{\AA}$ Ms= 828 theor. 835
(Di-Pikrol.)

Verseiftes Palustrin- (saure Verseifung mit 20 % HCl) - Pikrolonat
(Tri-Pikrolonat)

Gs= 1,44 mg Es= 0,195 / 3450 $\text{\AA}$ Ms= 968 theor. 1118

umkristall. Gs= 1,595 mg Es= 0,199 / 3450 $\text{\AA}$ Ms= 1050

LITERATUR-VERZEICHNIS

- 1) Hegi, Ill. Flora von Mitteleuropa, Bd. I, 52 (1906).
- 2) K. Haas, Diss. (Pharmakochemie von Herba Equiseti), Basel 1931.
- 3) Plinius, Historia naturalis, lib 26, cap. 13, zit. 2).
- 4) K. Haas, Diss., Basel 1931, 41.
- 5) Warren und Delavault, Bull. Geol. Soc. Am. 61, 123, zit. C.A. 44, 4086 a, (1950).
- 6) W.O. Robinson u.a., Econ. Geol. 42, 572, zit. C.A. 42, 1725, (1948).
- 7) Casparis und Haas, Pharm. Act. Helv. 6, 181, (1931).
- 8) F. Gaudard, Pharm. Act. Helv. 4, 157, (1929).
- 9) C. Masimo, G. Farmac. chim. Sci. affini, 84, 142, zit. C.A. 32, 2771, (1936).
- 10) K. Breitwieser, Arch. Pharm. 277, 53, (1939).
- 11) K. Haas, Diss., Basel 1931, 33.
- 12) Vollmer, Arch. Pharm. 278, 42, (1940).
- 13) Kreitmair, Merck's Jahresber. 50, 102, (1936).
- 14) Jaretzki, Arch. Pharm. 276, 552, (1938).
- 15) Meyer-Gottlieb, Die expt. Pharmakologie, 1936.
- 16) Kobert R., Münchn. Med. Wochenschr. 1918, 1459, zit. Haas, Diss. 30.
- 17) Manskaya u.a., Doklady Akad. Nauk. S.S.S.R. 505, zit. C.A. 43, 2283, (1949).
- 18) K. Haas, Diss., Basel 1931, 71.
- 19) M. Roberg, Arch. Pharm. 275, 91, (1937).
- 20) Nakamura und Hukuti, J. Pharm. Soc. Japan 60, 449, zit. C.A. 34, 7910, (1940).
- 21) F. Manske, Can.J. Research 20 B, 265, (1942).
- 22) P. Karrer, C.H. Eugster und D.K. Patel, Helv. 32, 2397 (1949).
- 23) G. Fiske, Bull. 261, 3, zit. C.A. 27, 1911, (1933).
- 24) Linné, C., Flora oeconomica, in Amoen, Acad. p. 385, zit. K. Haas Diss. 11.
- 25) P.F. Obukhov, Gigiena i Sanit. 13, No. 10, 39, (1948).
- 26) C. Gibelli, Arch. intern. pharm 41, 419, (1931).

- 27) D.K. Patel, Diss. (The chemical constituents of several equisetum species)
Zürich, Universität, 1950, 21.
- 28) Braconnot, Ann. chim. [2], 39, 12.
- 29) Schoene, Arch. Expt. Path. Pharm. 190, 372, (1938).
- 30) C. Gibelli, Boll. soc. ital. biol. sper. 9, 929, zit. C.A. 29, 1881, (1935).
- 31) A. Sosa, Compt. rend. 222, 1125, (1946).
- 32) Lohmann, Arb. d. dtsh. Landw. Ges. 100, (1904).
- 33) Molfino, Rev. farm. (Buenos Aires) 89, 7. zit. C.A. 41, 7548 (1947).
- 34) Starke, Diss. T.H. Dresden, 1941, zit. B. 83, 311, (1950).
- 35) P. Karrer und C.H. Eugster, Helv. 31, 1062, (1948).
- 36) A. Meetz, Milchwirtsch. Forschung 13, 405, (1932).
- 37) Keseling, Milchwirtsch. Forschung 16, 148, (1933).
- 38) Gerlach, Fortschr. d. Landw. 4, 377, (1929).
- 39) Günther, Fortschr. d. Landw. 7, 9 und 8, 177, (1932 und 1933).
- 40) Arne Hilli, Maataloustieteellinen Aikakauskirjy 19, 22, (1947),
Finnland,) zit. C.A. 42, 6036, (1948).
- 41) W. Wöhlbier und v. Freyberg, Ergebn. d. Agrikulturchemie 4, 171.
- 42) Glet und Gutschmidt, Zeitschr. physiol. Ch. 244, 229, (1936).
- 43) Wöhlbier und Beckmann, B. 83, 310 (1950).
- 44) Steyn, Onderstepoort 17, Pt. 2, 707, (Südafrikan. Union), zit. C.A.
27, 5421, (1933).
- 45) P. Karrer und Widmer, Helv. 9, 886, (1926).
- 46) Zit. bei Robert Koch, Lehrbuch der Intoxikationen, (1906), 1013.
- 47) Fortschr. vet. Hyg. 1, 33 u. 76, (1903).
- 48) P. Karrer, Lehrbuch der organischen Chemie, 11. Aufl. 982, (1951).
- 49) Henry, The plant alkaloids, (1949), 35.
- 50) Pal u. Narasinhham, J. Ind. Chem. Soc. 20, 181, (1943).
- 51) Marion, Can.J.Res. 23 B, 165, zit. C.A. 40, 1843, (1946).
- 52) Marion, Can.J.Res. 17 B, 21, zit. C.A. 33, 4063, (1939).
- 53) Manske u. Marion, Can.J.Res. 20 B, 87, zit. C.A. 39, 1331, (1945).
- 54) Orechoff u. Menschikoff, B. 64, 266, (1931).
- 55) Uebersicht in Henry, The plant alkaloids, (1949), 116.
- 56) Orechoff u. Proskurnina, B. 68, 1807, (1935).
- 57) Manske, Can. J.Res. 20 B, 265, zit. in Henry, 1, (1949).
- 58) Munier und Macheboeuf, Bull.Soc.chim.biol. 33, 849 (1951).
- 59) Consden, Gordon u. Martin, Biochem. J. 38, 244, (1944).
- 60) T. Clarke u.a. Am. Soc. 55, 4571 (1933).
- 61) H. Schmid und P. Karrer, Helv. 33, 883, (1950). (Die vereinfachte Formel
stammt von Dr. Kebrle, Universität Zürich).
- 62) Galinowski u.a. Mh. 81, 77 (1950).

LEBENS LAUF

Am 8. Februar 1925 wurde ich als Bürger von Zürich und Celerina (Grb.) in Zürich geboren. Hier besuchte ich die Primar- und Sekundarschule und trat anschliessend in das kantonale Technikum Winterthur ein. Nachdem ich zwischen den Semestern zwei Jahre praktisch gearbeitet hatte, erwarb ich mir 1945 das Diplom der Fachschule für Chemie. Die folgenden drei Jahre waren mit längeren Militärdienstleistungen und Arbeiten auf verschiedenen Richtungen der Chemie ausgefüllt. Ein sechsmonatiger Aufenthalt in England, währenddessen ich in der pharmazeutischen Industrie tätig war, beschloss die erste Stufe meiner Ausbildung.

In einem Kurs einer privaten Schule und hauptsächlich durch Selbststudium bereitete ich mich auf die Ergänzungsprüfung zur Maturität vor, die ich im Frühjahr 1949 bestand. Zu Beginn des Sommersemesters desselben Jahres immatrikulierte ich mich an der philosophischen Fakultät II der Universität Zürich für das Studium der Chemie. Im propädeutischen Fach Mathematik besuchte ich Vorlesung und Uebungen von Prof. R. Fueter. Als zweites Nebenfach wählte ich Zoologie und belegte die Vorlesungen und Kurse der Professoren E. Hadorn und H. Steiner. Im ersten Nebenfach Physik nahm ich an den Vorlesungen und Praktika von Prof. Staub teil. Im Hauptfach Chemie besuchte ich Vorlesungen und Kurse der Professoren P. Karrer, C. Clusius, H. Schmid und M. Viscontini. Unter der Leitung von Frl. Dr. G. Bussmann absolvierte ich an der Universität einen mikrochemischen Kurs.

Die vorliegende Arbeit wurde von Winter 1950 bis Frühjahr 1953 unter der Leitung von Herrn Prof. Karrer und seiner Assistenz, Dr. C.H. Eugster am chemischen Institut der Universität Zürich ausgeführt.

INHALTSVERZEICHNIS

UEBERSICHT über die bisher gefundenen Inhaltsstoffe von Equisetum

Einleitung	5
Eq. arvense	6
Eq. fluviatile	8
Eq. hiemale	8
Eq. maximum	9
Eq. limosum	9
Eq. palustre	9
Eq. ramosissimum	12
Eq. silvaticum	12

THEORETISCHE BETRACHTUNGEN zu den eigenen Arbeiten

Bau von Palustrin und Funktion der N- und O-Atome	13
Betrachtungen über die Biogenese des Palustrins	15

EXPERIMENTELLER TEIL

I. Darstellung von Palustrin	18
Ia. Infrarotspektrum von Palustrin	20
II. Palustrin-dipikrolonat	20
III. Palustrin-diperchlorat	20
IV. 2,4-Dinitrophenylpalustrin	21
V. Reaktion von Palustrin mit CH_3J und Ag_2O	21
Va. Palustrinjodmethylat-hydrojodid	22
VI. Methylierung von Palustrin nach Eschweiler	22
VII. Saure Verseifung von Palustrin	23
VIII. Durchgreifender CrO_3 -Abbau von Palustrin	24
IX. Durchgreifender CrO_3 -Abbau von Desoxypalustrin	26
X. Reaktion von Palustrin mit LiAlH_4 (Desoxypalustrin)	26
XI. Desoxypalustrin-dipikrolonat	27
XII. Reaktion von Desoxypalustrin mit CH_3J	28
XIII. Dihydropalustrin	28

XIV.	Optische Drehung von Dihydropalustrin	29
XV.	Reaktion von Dihydropalustrin mit p-Nitrobenzoylchlorid	29
XVI.	Reaktion von Dihydropalustrin mit Thionylchlorid	30
XVII.	Reaktion von Dihydropalustrin mit Essigsäureanhydrid	30
XVIII.	Reaktion von Dihydropalustrin mit Methyljodid	31
XIX.	Hofmannscher Abbau von Dihydropalustrin	32
XX.	<i>Equisetum silvaticum</i>	33
XXI.	<i>Equisetum limosum</i>	33
XXII.	Fettsäuren aus <i>Eq. palustre</i>	34
Ausführung der Papierchromatogramme		36
Molekulargewichtsbestimmung mit Hilfe spektrophotometrischer Messungen		37
LITERATURVERZEICHNIS		39
LEBENS LAUF		41

